



Adamantinomatous typeの頭蓋咽頭腫にみられるCTNNB1遺伝子変異の生物学的・臨床的意義

著者	原 拓真
発行年	2019
学位授与大学	筑波大学 (University of Tsukuba)
学位授与年度	2018
報告番号	12102甲第9194号
URL	http://hdl.handle.net/2241/00160112

氏 名	原 拓真
学 位 の 種 類	博士（医学）
学 位 記 番 号	博甲第 9194 号
学位授与年月	平成 31年 3月 25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審 査 研 究 科	人間総合科学研究科
学位論文題目	Clinical and biological significance of adamantinomatous craniopharyngioma with <i>CTNNB1</i> mutation (Adamantinomatous type の頭蓋咽頭腫にみられる <i>CTNNB1</i> 遺伝子変異の生物学的・臨床的意義)
主 査	筑波大学教授 博士（医学） 武川 寛樹
副 査	筑波大学教授 医学博士 野口 雅之
副 査	筑波大学准教授 博士（医学） 奥村 敏之
副 査	筑波大学准教授 博士（医学） 和田 哲郎

論文の内容の要旨

原 拓真氏の博士学位論文は、2 種類に分類される頭蓋咽頭腫のうち 90%を占める adamantinomatous type に対して、*CTNNB1* の遺伝子変異に着目し次世代シーケンサーとサンガー法にて臨床検体 42 例を解析し遺伝子変異を同定した後、さらに *CTNNB1* 変異による生物学的・臨床的比較を行ったものである。その要旨は以下の通りである。

（目的）

原発性頭蓋内腫瘍の 2.1%を占める頭蓋咽頭腫は病理組織学的に 2 種類（adamantinomatous type と papillary type）に分類され、臨床的にも幾つかの点で特徴が異なる事が分かっている。近年、腫瘍の遺伝子解析から両者の遺伝子変異の特徴が報告されている。解析結果からは *CTNNB1*（ β -catenin）遺伝子変異の頻度が adamantinomatous type で 64-99%程度、*BRAF* V600E mutation の頻度が papillary type で 95%程度であることが報告されている。近年では *BRAF*変異陽性の papillary type に対する分子標的薬が治療に使用され有効性を示したとの報告もあり、今後の分子標的療法について期待されている。一方、adamantinomatous type ではその腫瘍局在、高い再発率、若年発症の多さ、などの理由から長期制御が重要な課題となり、手術・放射線以外の薬物治療等の新規治療法が期待される。著者は当院で経験した症例に対して、特に *CTNNB1* の遺伝子変異に着目し adamantinomatous type の遺伝子変異解析、免疫組織解析、臨床所見比較、遺伝子発現解析、等を行い、今後の分子標的薬治療に有意義なサブタイプ分類を検討する事を目的とした。

（対象と方法）

2003 年～2015 年に筑波大学附属病院にて手術治療を行った頭蓋咽頭腫全 62 症例。そのうち組

み入れ基準に合致した頭蓋咽頭腫 42 症例について解析を行った。年齢中央値 42 歳(2-73)、観察期間中央値 46 ヶ月(3-170)、性別 (男 24:女 18)、組織型 (papillary type 10:adamantinomatous type 32)。全例で手術による可及的摘出をおこない、得られた検体より DNA と RNA を抽出し、次世代シーケンサーとサンガー法による変異解析を行った。解析の結果から adamantinomatous type の症例を *CTNNB1* 遺伝子変異が陽性と陰性の 2 群に分類した。この 2 群間での臨床所見・画像所見・免疫組織学的所見・遺伝子発現などの違いを検証することを目的に RT-PCR や免疫染色などの各種解析を行った。

(結果)

Papillary type は 10/10 (100%) で *BRAF* V600E の変異を認め、adamantinomatous type は 21/31 (68%) で *CTNNB1* の変異を認めた(1 例はサンプル不良で除外)。著者は Adamantinomatous type を *CTNNB1* 変異の有無で 2 群に分類し、画像所見・臨床所見・免疫組織学所見・遺伝子発現解析について比較検討を行ったが、画像所見・免疫組織学所見に関しては 2 群間で明らかな有意差を認めるような特徴の差は無かった。臨床所見では、全症例(フォローアップ期間 6 か月以下の 1 症例を除く)での再発リスクに有意差は認められなかった。また、術後放射線照射を行った群と行わなかった群では無増悪生存期間で統計学的有意差を認めた ($P=0.004$)。術後放射線照射症例を除いた再発リスクは変異あり群で 5 年無増悪生存期間 22.9%、変異なし群で 5 年無増悪生存期間は 66.7%となり両群間で統計学的有意差を認めた ($P=0.031$)。また Wnt/ β -catenin シグナル経路の下流因子である *Axin2* と *BMP4* に着目して遺伝子発現を RT-PCR にて解析したが、そのうち *Axin2* の mRNA 量に関して 2 群間で統計学的有意差を認めた ($P=0.043$)。

(考察)

本研究での adamantinomatous type の *CTNNB1* 遺伝子変異陽性率は 68%であった。この頻度は過去の報告と大きくは相違なく収まっており想定された範囲内であった。また次世代シーケンサーでの allele frequency が 10%以上のサンプルではサンガー法での変異陽性率は 100%であったが、10%以下では変異陽性率 50%であった。この数値もゲノム診療用病理組織検体取扱い規程 2017 に記載されている数値とおおむね同様であった。*CTNNB1* の遺伝子変異により β -catenin の核内移行と蓄積が進み、あとに続く Wnt/ β -catenin シグナルの経路が活性化された可能性がある。著者は Wnt/ β -catenin シグナル経路の遺伝子のうち *Axin2* の mRNA 発現量が増加している事を確認した。こうした遺伝子発現の増加がどのように頭蓋咽頭腫の再発リスク増大に関与しているかは未だ解明できていない部分もあるが、術後の放射線照射と *CTNNB1* 遺伝子変異陽性が予後や再発の予測因子となる可能性を発見した。今後は Wnt/ β -catenin シグナルの他の周辺因子の遺伝子変異や遺伝子発現の解析を追加することで、より詳細なメカニズムを明らかにする事を予定している。

審査の結果の要旨

(批評)

本研究で著者は、頭蓋咽頭腫の遺伝子変異において *BRAF*V600E 変異と *CTNNB1* 変異を次世代シーケンサーで調べ、その後サンガー法で確認した。手技的に各遺伝子変異の両方法での一致率を調べるなど丁寧で確実な実験を行っている。その結果、papillary type では 100%*BRAF*V600E 変異を確認し、adamantinomatous type では *CTNNB1* 陽性が 68%と陰性が 32%の 2 群に分かれることを見出した。この 2 群に対して臨床所見を比較検討した結果、*CTNNB1* 変異陽性群では 5 年無増悪生存期間が有意に不良になること(術後放射線治療していない場合)を発見した。著者は *CTNNB1* 変異の作用機序に関して Wnt シグナル経路の解析を行ったところ、まず β -catenin 分解複合体が作れないために β -catenin が分解されず核内蓄積が起こることを免疫組織染色にて証明した。さらに下流の遺伝子発現の一つである *Axin2* が有意に増加していることも確認した。論理的で確実な分子機構の証明は非常に高く評価される。本研究は、adamantinomatous type の予後に影響を与える *CTNNB1* 遺伝子変異とその分子機構を明確に証明しており、将来の分子標的療法のターゲットを探索するうえでも大変重要な成果といえる。

平成 31 年 1 月 9 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。